

## 10. Oxígeno en el periodo neonatal: consecuencias patológicas en edades posteriores de la vida

MÁXIMO VENTO TORRES

Doctor en Medicina.

Académico Correspondiente. Real Academia de Medicina de Valencia.

Profesor Titular de Pediatría. Servicio de Neonatología. Hospital la Fe (Valencia)

JOSÉ VIÑA RIBES

Doctor en Medicina.

Académico de Número. Real Academia de Medicina de Valencia.

Catedrático Fisiología. Facultad de Medicina. Universidad de Valencia

### RESUMEN

La transición fetal neonatal supone el paso de un ambiente de relativa hipoxia a uno de hiperoxia en escasos minutos, habiéndose demostrado experimental y clínicamente la presencia de un estrés oxidativo asociado a la misma. En situaciones patológicas como la asfixia intraparto o la prematuridad, los recién nacidos precisan de suplementos importantes de oxígeno que pueden llegar al 100% de la fracción inspiratoria. En esas situaciones se ha podido demostrar la presencia de daño oxidativo agudo a miocardio y riñón, así como un aumento de la mortalidad, por lo que se está recomendando la reanimación con oxígeno a bajas concentraciones. La utilización de oxígeno también predispone a la patología crónica pulmonar llamada displasia broncopulmonar que se puede incluso prolongar hasta la vida adulta en forma de insuficiencia pulmonar restrictiva. Finalmente, estudios epidemiológicos realizados en Suecia y Estados Unidos han asociado la utilización de oxígeno puro por más de tres minutos en el periodo neonatal con la aparición de ciertos tipos de cánceres en la edad infantil.

## SUMMARY

Fetal to neonatal transition implies going from a relative hypoxic environment to a hyperoxic one in just few minutes. In the experimental and clinical setting it has been proved that this transition is associated with oxidative stress. In perinatal asphyxia or prematurity the use of high oxygen concentrations causes increased damage to heart and kidney, and even increases perinatal mortality. Thus, it has been recommended to use lower oxygen inspiratory fractions to resuscitate these infants. Moreover, the use of oxygen may cause chronic lung disease that may evolve to respiratory insufficiency in the adult age. In the latter years, epidemiologic studies performed in Sweden and US have correlate the use of pure oxygen for more than 3 minutes in the neonatal period with ce

## 1. ADAPTACIÓN FISIOLÓGICA EN LA TRANSICIÓN FETAL-NEONATAL

### 1.1. Metabolismo energético, radicales libres y especies reactivas de oxígeno, defensas antioxidantes y estrés oxidativo

#### 1.1.1. *Metabolismo energético*

La energía que se precisa para el mantenimiento de las funciones fisiológicas como son las cardio-circulatorias, respiratoria, movimiento muscular, actividad neuronal, digestión, etc., así como crecimiento y desarrollo, se obtendrán mediante el paso de los trifosfatos de adenosina y guanosina a difosfatos (ADP y GDP).



Para la formación de ATP la energía tiene que ser absorbida. Esta energía como hemos indicado proviene de los alimentos ingeridos, y por su transformación metabólica dará lugar a la formación de dos agentes reductores NADH (nicotin adenin dinucleótido reducido) y FADH<sub>2</sub> (Flavin adenin dinucleótido reducido). Así, la glucosa, un hidrato de carbono de 6 átomos de carbono, es uno de los principales nutrientes que darán lugar a energía. Cuando se rompen los enlaces químicos de la glucosa se produce una liberación de energía. La completa metabolización de la glucosa a CO<sub>2</sub> (anhídrido carbónico) acontece en dos procesos: la glicólisis y el ciclo del ácido tricarboxílico o ciclo de Krebs, tal y como se muestra en el esquema:



(Glicólisis)

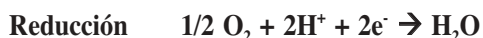
(Paso intermedio)



(Ciclo Krebs)

Este proceso dará lugar tan sólo a la formación de 4 moléculas de ATP o de GTP, totalmente insuficientes para mantener el adecuado funcionamiento del organismo. Pero también se forman NADH y FADH<sub>2</sub> que tienen la peculiaridad de que se pueden oxidar (ceder electrones) de forma espontánea. El organismo utiliza estos agentes reductores en una reacción de oxido-reducción en la que se libera gran cantidad de energía. El acoplamiento de la oxidación de NADH y FADH<sub>2</sub> y la fosforilación del ADP a ATP se conoce como fosforilación oxidativa, y en este proceso se forman hasta 30 moléculas de ATP a partir de una molécula de glucosa.

Este sería el esquema de la fosforilación oxidativa:



**Energía generada: 189.6 kJ**

---

Las reacciones de fosforilación oxidativa se llevan a cabo en las mitocondrias. Los electrones son transferidos hasta el oxígeno molecular mediante la acción de una serie de proteínas transportadoras de electrones. La reducción completa de la molécula de dioxígeno requiere la aceptación de 4 electrones. Los transportadores de electrones están insertados en las membranas que forman las paredes internas de las mitocondrias. Durante el proceso de transporte de electrones, se produce un gradiente de protones (H<sup>+</sup>) a través de la membrana interna mitocondrial que genera la liberación de una gran cantidad de energía que es captada para la síntesis de ATP.

La cadena transportadora de electrones es un complejo formado por 5 proteínas transportadoras que actúan de forma concatenada, transportando los electrones

desde el ciclo de Krebs hasta el dioxígeno molecular. Las proteínas que forman la cadena respiratoria son: NAD-Q reductasa, ubiquinona, citocromo reductasa, citocromo C y citocromo oxidasa. Entre ellas, la NAD-Q reductasa, la citocromo reductasa y la citocromo oxidasa también son bombas de protones, y simultáneamente al transporte de electrones bombean protones desde la matriz mitocondrial al espacio inter-membranal completando la reacción de oxido-reducción. La ATP sintetasa, permite que los protones difundan de nuevo a la matriz, y aprovecha la energía que se libera en este proceso para la síntesis de ATP. Los electrones son finalmente cedidos al oxígeno con lo que se completa la reacción (1, 2, 3).

## 2. RADICALES LIBRES Y ESPECIES REACTIVAS DE OXÍGENO

### 2.1. Concepto

El final de toda combustión aeróbica completa de un producto orgánico es la formación de  $\text{CO}_2$  y  $\text{H}_2\text{O}$ . La estabilidad molecular del oxígeno (en realidad es una molécula de di-oxígeno), requiere la reducción tetravalente con 4 electrones que completen sus orbitales externos. Sin embargo, en la realidad no siempre ocurre así. En un 2% de ocasiones, el oxígeno es sometido a una reducción incompleta (mono, di o trivalente). Como consecuencia de ello se formarán moléculas altamente reactivas que se conocen como especies reactivas de oxígeno (ERO). La especie reactiva más conocida y que se genera con mayor frecuencia es el radical superóxido ( $\text{O}_2^-$ ), pero también son frecuentes los radicales peróxido de hidrógeno ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) e hidroxilo ( $\text{OH}^\cdot$ ).

Los radicales libres son moléculas, iones, o especies químicas capaces de existir independientemente, y que se caracterizan por tener uno o más electrones desapareados. Esta peculiaridad les confiere una gran reactividad. Para estabilizar sus orbitales en régimen de baja energía, tienden a sustraer los electrones de cualquier molécula presente en su proximidad, convirtiéndola a su vez en un radical libre, provocando de este modo una reacción en cadena. La desnaturalización de las moléculas vecinas dará lugar a alteraciones estructurales (daño a las membranas celulares), funcionales (alteración de enzimas, proteínas transportadoras, receptores de membrana) o genéticas (oxidación de bases de DNA, ácidos nucleicos).

No hay que confundir el término radical libre con el de «especie reactiva de oxígeno» (*reactive oxygen species*), que comprende algunas moléculas que pueden ser definidas como radicales libres, pero también otras que son especies oxidantes relacionadas con el oxígeno molecular, pero que no poseen electro-

nes desapareados, como es el caso del peróxido de hidrógeno y por lo tanto, no son radicales libres (4, 5).

## 2.2. Formación de especies reactivas de oxígeno (ERO)

¿Cómo se forman las especies reactivas de oxígeno? Las fuentes de especies reactivas de oxígeno en la célula son muy variadas y pueden tener un origen enzimático y no enzimático. En condiciones fisiológicas, un 2% del oxígeno es reducido de forma incompleta en la cadena respiratoria mitocondrial de los mamíferos, generando principalmente anión superóxido y peróxido de hidrógeno. También se generan importantes cantidades de ERO en el retículo endoplásmico liso por acción del citocromo P450, en las membranas nucleares que contienen gran cantidad de citocromo oxidasa, y peroxisomas. También se forman gran cantidad de ERO por la acción de enzimas solubles como la xantina oxidasa, aldehído oxidasa, flavoproteína deshidrogenasa y triptófano deshidrogenasa. También se forman ERO por la auto-oxidación de pequeñas moléculas como la dopamina, adrenalina, flavinas e hidroquinonas. De la xantina oxidasa hablaremos más adelante en el apartado relativo a la isquemia-reperusión (6).

El radical superóxido se forma por la reducción monovalente del oxígeno. El anión superóxido en presencia de metales de transición, como hierro y cobre, puede dar lugar a la formación de especies reactivas adicionales según las reacciones de Haber-Weiss y de Fenton, amplificando la posibilidad de estrés oxidativo. El producto final de estas reacciones es el anión hidroxilo ( $\text{OH}\cdot$ ), de enorme reactividad, ya que no existe ningún antioxidante enzimático que lo pueda bloquear. Además, en presencia de óxido nítrico ( $\text{NO}$ ), el anión superóxido puede dar lugar a peroxinitrito ( $\text{ONOO}^-$ ). Esta molécula se caracteriza por poseer una relativa estabilidad, una alta reactividad, y la capacidad de actuar como anión superóxido y de liberar superóxido, o especies reactivas similares en lugares distantes de donde se ha producido. Todo ello la convierte en una molécula potencialmente muy dañina.

Existen una serie de situaciones no fisiológicas que se caracterizan por un incremento importante en la producción de ERO:

- Exposición a concentraciones suprafisiológicas de oxígeno.
- Acción de las células inflamatorias.
- Incremento de la circulación de metales de transición libres (hierro libre).
- Situaciones caracterizadas por una isquemia seguida de reperusión cuyo paradigma es la asfixia intraparto (4, 5).

## 2.3. Defensas antioxidantes

La capacidad de utilizar el oxígeno como aceptor de electrones en la cadena respiratoria y así multiplicar la eficiencia energética de los principios inmediatos, se ha debido al desarrollo de un sistema antioxidante que permite neutralizar las ERO generadas en el metabolismo oxidativo celular. Los antioxidantes pueden actuar de una forma preventiva, evitando la formación de especies reactivas de oxígeno o nitrógeno, los quelantes de metales (hierro o cobre), o bien disminuyendo la reacción inflamatoria (acetilsalicílico). Pero, los más comunes, al menos con una aplicación clínica, son aquellos que son capaces de interceptar al radical libre una vez formado, secuestrarlo o bloquearlo.

Los antioxidantes son clasificados en dos grandes grupos: enzimáticos y no enzimáticos, que generalmente son vitaminas (A, E, C) o pequeñas moléculas como el glutatión, tio-redoxina, etc.

Podemos diferenciar los siguientes grupos:

3.1. «*Sumideros enzimáticos*» (scavengers) tales como superóxido dismutasa (SOD), que favorece la dismutación o cambio del radical superóxido a hidroperóxido; y catalasa (CAT) y glutatión peroxidasa (GPx) que convierten el hidroperóxido en agua.

3.2. «*Sumideros de radicales hidrofílicos*» tales como ascorbato, urato, y glutatión.

3.3. «*Sumideros de radicales lipofílicos*» tales como los tocoferoles, flavonoides, carotenoides y ubiquinol.

3.4. *Enzimas implicadas en la reducción* de las formas oxidadas de pequeños antioxidantes moleculares (GSH reductasa; dehidroascorbato reductasa) o responsables del *mantenimiento de los tioles* proteicos (tio-redoxin reductasa)

3.5. La maquinaria celular que mantiene un ambiente de reducción en el interior de la célula (así la Glucosa 6 Fosfato Deshidrogenasa que regenera el NADPH).

En nuestro laboratorio nos hemos ocupado preferentemente del glutatión como agente antioxidante y el cociente glutatión reducido (GSH) / glutatión oxidado (GSSG) es uno de los parámetros más fiables de estrés oxidativo. En nuestro laboratorio se han introducido modificaciones en la metodología de la determinación del glutatión reducido que han permitido disminuir notablemente la tendencia a la auto-oxidación, que es uno de los factores más comunes de error y de falta de reproducibilidad en la determinación.

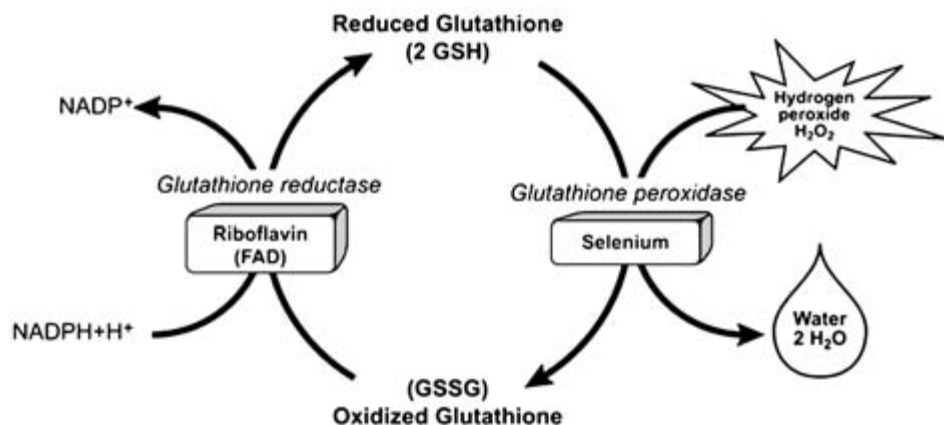


FIGURA 1. Ciclo redox del glutatión.

El glutatión es un tripéptido (L- $\gamma$ -glutamyl-L-cisteinyl-glicina) ubicuo y que está considerado el buffer redox más importante a nivel intracelular. Se sintetiza por acciones consecutivas de dos enzimas dependientes del ATP, la  $\gamma$ -glutamyl-cistein sintetasa (GSC) (EC 6.3.2.2) y la GSH sintetasa (EC 6.3.2.3). Esta última es la enzima limitante, y su actividad se retroalimenta por los niveles fisiológicos de GSH. En recientes experimentos se ha visto que la GSC se expresa y está activa en el hígado humano, pulmón y riñón desde el segundo trimestre de la gestación. De estos hallazgos se puede concluir que la GSC está totalmente operativa en los prematuros y, por lo tanto, el factor limitante de la síntesis de glutatión sería el aporte adecuado de L-cisteína y la integridad funcional de los tejidos mencionados (hígado, pulmón y riñón).

El glutatión está presente en las células en su forma tiol-reducida (GSH) y di-sulfuro (GSSG). Aproximadamente el 90% del GSH celular esta en el citosol, alrededor de un 10% esta en las mitocondrias, y un pequeño porcentaje en el retículo endoplásmico. La GSH proporciona un elevado pool de equivalentes reductores y, por lo tanto, se le considera que el ciclo redox del glutatión es el sistema buffer redox más importante de la célula. La señalización celular implica cambios en el estado tiol de las proteínas, debido a cambios en el entorno redox de la célula que puede modular la transducción, la síntesis de DNA y RNA, la síntesis proteica, la activación enzimática, e incluso el ciclo celular. El GSH también tiene una utilidad importante como almacén de L-cisteína ya que la cisteína es inestable en el medio extracelular y se auto-oxida rápidamente a L-cistina en un proceso que puede dar lugar a radicales libres potencialmente tóxicos.

El valor fundamental del glutatión reducido como antioxidante es que puede unirse a otra molécula de GSH mediante puentes di-sulfuro convirtiéndose en GSSG y donar dos electrones que permiten neutralizar radicales libres ávidos de electrones. A su vez, el GSSG mediante la acción de la glutatión reductasa y captando electrones del FADH e indirectamente del NADPH puede regenerarse de nuevo a GSH y estar preparado para actuar de nuevo. Este proceso es conocido como ciclo redox del glutatión (4, 5, 6, 7, 8, 9) (Figura 1).

## 2.4. Estrés y daño oxidativo

Se conoce como estrés oxidativo, según la definición clásica de Helmut Sies, al desequilibrio entre la producción y neutralización de radicales libres a favor del primero. En situación de desequilibrio se puede producir daño a las moléculas constitutivas de los seres vivos produciendo daño oxidativo inmediato y a largo plazo.

Respecto a los lípidos se sabe que un radical hidroperoxilo sustrae un átomo de hidrógeno del doble enlace de un lípido insaturado vecino formando un hidroperóxido y un radical alquilo, el cual a su vez reacciona con el oxígeno para regenerar un radical lipídico hidroperoxilo capaz de iniciar de nuevo el proceso oxidativo. Una consecuencia importante de la oxidación de los lípidos de las membranas celulares es la alteración de la fluidez y por ende las propiedades de las mismas que pueden producir la disrupción de las proteínas unidas a las membranas.

El daño oxidativo a los ácidos nucleicos puede revestir características muy complejas. El DNA es uno de los objetivos más importantes para las ERO. El daño puede producir «cross-links» a las proteínas, lesiones a la estructura básica de desoxirribosa, así como cambios específicos de las bases del DNA. Las modificaciones oxidativas de las bases del DNA pueden dar lugar a mutaciones, mientras que la oxidación de la desoxirribosa induce la liberación de bases o la rotura de cadenas de DNA.

Las propiedades electroquímicas de la 8-oxo-guanina (oxo8gua) y de la 8-oxo-dihidroxi-2 deoxiguanosina (8oxodG) han permitido el acoplamiento de sistemas de detección electroquímicos extraordinariamente sensibles a la cromatografía líquida de alta precisión (HPLC), lo que ha permitido el estudio de su formación, acumulación y excreción en seres vivos. La identificación de reparaciones enzimáticas específicas de lesiones oxidativas ha proporcionado la prueba de la significación del daño oxidativo al DNA así como



herramientas para manipular la carga de daño in vivo por mecanismo de knock-out genético. En nuestros estudios hemos utilizado la eliminación en orina de oxo8dG como marcador seriado de daño al DNA en situaciones de estrés oxidativo, y se ha podido demostrar su correlación con el envejecimiento mitocondrial.

La oxidación de proteínas no ha sido tan bien caracterizada, aunque se han podido documentar daños específicos incluyendo la oxidación de grupos sulfhidrilos, reducción de disulfidos, aducción oxidativa de residuos de aminoácidos, reacción con aldehídos, fragmentación peptídica etc. Un hallazgo esencial muy reciente es el hallazgo de la inactivación de ciertas enzimas que poseen en su núcleo activo clusters de hierro-azufre y que son muy sensibles a la acción de los radicales superóxido, así la aconitasa del ciclo del ácido tricarboxílico y que además de su inactivación supone la liberación de hierro libre del enzima con las consecuencias desastrosas (activación de la reacción de Fenton) que ello puede suponer (8, 10).

### 3. FISIOPATOLOGÍA DE LA HIPOXIA-REOXIGENACIÓN

La asfixia intraparto se caracteriza por la sucesión intermitente de periodos de hipoxia (anoxia) y de perfusión (reoxigenación), que si se prolongan en exceso pueden dar lugar a daño irreversible multiorgánico. La reanimación puede provocar la llamada «*paradoja del oxígeno*», es decir que la reintroducción de un exceso de oxígeno a tejidos previamente hipóxicos provoque una amplificación del daño inicial (11, 12).

Los cambios metabólicos que acontecen en el proceso de isquemia/ perfusión son extremadamente complejos y no se comprenden todavía en su totalidad. Durante los periodos de hipoxia se producen cambios específicos en las células que afectan a la actividad de determinadas enzimas, a la función mitocondrial, a la estructura cito-esquelética, al transporte a través de las membranas y a la disminución de las defensas antioxidantes. Todos estos cambios, en conjunto, predisponen a los tejidos a sufrir daño durante la reoxigenación. El incremento de la producción de especies reactivas de oxígeno durante la hipoxia está asociado a cambios en los componentes de la cadena respiratoria mitocondrial. Así, la inhibición de la expresión de la multi-subunidad citocromo-oxidasa (complejo IV) de la cadena respiratoria conduce a la producción de una gran cantidad de ERO, debido a la falta de un aceptor final de electrones. Por otra parte, se produce una inhibición de la actividad de la superóxido dismuta-

sa (SOD), que favorece la acción deletérea de los radicales superóxido. El mecanismo por el cual la SOD es inhibida durante la hipoxia no se conoce todavía. Además, durante los periodos de hipoxia, el contenido de hierro en los eritrocitos se ve incrementado, lo que favorece la reacción de Fenton, que produce el radical hidroxilo, altamente tóxico, lo cual no hace sino agravar la situación (5, 6, 10).

Durante la reperusión/reoxigenación, dos enzimas íntimamente ligadas, la xantina oxidasa (XO) y la aldehído oxidasa, son capaces de provocar un incremento adicional de la formación de ERO. La XO está presente en los tejidos de forma habitual como xantina deshidrogenasa (XD) dependiente de  $\text{NAD}^+$ , y no es capaz de generar ERO. La XD es convertida de forma activa en una oxidasa, por oxidación sulfhidrónica o por proteólisis parcial, condiciones ambas que se dan durante la reoxigenación. Esta oxidasa produce tanto anión superóxido como peróxido de hidrógeno y, a diferencia de la XD que utiliza el  $\text{NAD}^+$  como sustrato, la XO utiliza el oxígeno, y por lo tanto durante la hipoxia no puede catabolizar la transformación de hipoxantina en xantina, lo que explica la acumulación de la primera en los periodos de hipoxia. Cuando se reintroduce el oxígeno durante la reperusión, la conversión del exceso de hipoxantina en xantina por acción de la XO, da lugar a la formación de una gran cantidad de especies reactivas de oxígeno altamente tóxicas (10).

En los últimos años se ha descubierto que las ERO también actúan como reguladores de la función celular y como señalizadoras celulares mediante un doble mecanismo de actuación. Por una parte, son capaces de alterar el estado de oxido-reducción (redox) intracelular, y por otra, producir modificaciones oxidativas de las proteínas del citosol. El citosol se mantiene de forma habitual en un estado altamente reducido, gracias a la capacidad buffer redox de los tioles (proteínas con enlaces disulfuro) intracelulares, en especial el complejo GSH/GSSG y la tioredoxina. Las formas reducidas de ambos tioles se regeneran por la acción de las reductasas de GSH y tioredoxina. Finalmente, hoy en día se sabe que los niveles intracelulares de GSH total, así como el cociente GSH/GSSG son esenciales en la regulación de la señalización redox dependiente. La depleción de GSH se asocia a alteraciones en la proliferación celular y puede incluso disparar mecanismos de apoptosis o muerte celular programada. Por ello, se especula en la actualidad acerca del papel mutagénico y/o carcinogénico que puede tener el oxígeno administrado en periodos especialmente sensibles del desarrollo como es la transición fetal neonatal (13).

## 4. ASFIXIA INTRAPARTO: ESTRÉS OXIDATIVO SECUNDARIO A LA REANIMACIÓN CON OXÍGENO PURO FRENTE A AIRE AMBIENTE

### 4.1. Reanimación con aire ambiental: fundamentos y experiencia clínica

#### 4.1.1. Generalidades

La reanimación del recién nacido es uno de los procedimientos médicos más ampliamente extendidos ya que se calcula que en los 130 millones de partos que tienen lugar cada año en el mundo, en 4 millones de ocasiones el recién nacido sufre de asfixia intraparto. De estos recién nacidos afectados, un 25% fallece durante el periodo neonatal y otro 25%, es decir un millón de neonatos desarrolla algún tipo de secuela. Se podría decir, sin temor a equivocarse, que la asfixia intraparto es uno de los 4 jinetes del Apocalipsis neonatal, junto con las infecciones, la prematuridad y las malformaciones congénitas. Por lo tanto, lograr una óptima reanimación y, por ende, una disminución de la mortalidad y morbilidad secundarias a la asfixia intraparto es una gran demanda para los neonatólogos ya que significaría salvar la vida y la integridad física de cientos de miles de recién nacidos a lo largo y ancho de nuestro planeta (8, 9, 11, 12).

La reanimación tradicional, y la que aún se sigue aceptando por los organismos más representativos a nivel internacional, recomienda para la ventilación del neonato asfíctico el oxígeno puro. Sin embargo, esta modalidad terapéutica fue introducida sin la realización previa de estudios clínicos aleatorizados. Se asumió, basándose en la experiencia clínica, que el uso de oxígeno al 100% favorecería una más rápida normalización de la hipoxemia. En gran medida, esta convicción se basaba en el hecho de que la ventilación durante la asfixia con elevadas concentraciones de oxígeno favorecía la vasodilatación de los vasos pulmonares y por lo tanto la hematosis. En ciertos trabajos experimentales se comprobó como conejos sometidos a isquemia miocárdica transitoria, presentaban una menor área de infarto cuando se les administraba oxígeno hiperbárico durante el periodo isquémico y a continuación del mismo (14, 15, 16, 17). Sin embargo, la mayoría de los trabajos experimentales realizados en los últimos años en modelos animales han venido a demostrar que la reanimación con aire ambiental era igual de eficiente que el oxígeno al 100% (6, 7, 11). Es más, la utilización de bajas concentraciones de oxígeno durante la resucitación del cerdo asfixiado, disminuye las concentraciones tisulares de hipoxantina, y por lo tanto la generación de radicales libres de oxígeno (18). De igual manera, la utilización de oxígeno al 100% provocaba situaciones de hiperoxia prolongada

( $P_aO_2 > 100$  mmHg) que disminuían la capacidad de respuesta a la ventilación. Los valores de gasto cardíaco, flujo cerebral, resistencia vascular cerebral así como flujo regional a determinados órganos como miocardio, bazo, riñón, músculos esqueléticos, dermis o intestino, no diferían entre los animales reanimados con aire o con oxígeno puro. Por otra parte, los estudios necrópsicos del cerebro realizados en animales con asfixia severa experimental reanimados con aire y con oxígeno puro no mostraron diferencia alguna (7). Es más, en estudios recientes, se observó como los niveles de hipoxantina en el tejido cerebral se normalizaban más rápidamente en animales reanimados con aire que en aquellos en quienes se había usado oxígeno al 100% (18). La disminución de la resistencia vascular pulmonar es uno de los argumentos más utilizados para defender el uso de altas concentraciones de oxígeno. Trabajos realizados en modelo experimental de cerdo recién nacido asfixiado han demostrado fehacientemente que el uso de aire ambiental reduce de forma eficaz y muy similar las resistencias vasculares pulmonares. Estos hallazgos confirman hipótesis previas que indicaban que subir la  $P_aO_2$  por encima de 50 mmHg no producía una mayor o más rápida vasodilatación de los vasos pulmonares (18, 19, 20, 21).

#### 4.1.2. *Estudios clínicos realizados*

En total, desde 1993, se han realizado 11 estudios que han comparado la reanimación con aire ambiental frente al uso tradicional del oxígeno puro (Tabla I) (22).

Los estudios tienen características diversas. Así, tres de ellos comprenden recién nacidos pretérmino hasta un peso de 1000 gramos como límite inferior, mientras que los otros tres comprenden sólo recién nacidos a término. Por otra parte, tres estudios realizan una pseudo-aleatorización, de modo que los casos se reanimaron con aire o con oxígeno de acuerdo si el día de nacimiento fue par o impar; sin embargo, en otros estudios se realizó la randomización mediante el uso de números aleatorios asignados a la historia de la madre de forma totalmente secreta y que sólo en el momento de la reanimación fue revelado. Los estudios aleatorizados también están por lo tanto cegados para la fuente de gas utilizada para la reanimación, ya que en estos estudios, la enfermera abría un sobre en el que un número aleatorio le indicaba que tipo de mezcla gaseosa debía utilizar, y a continuación ella cambiaba el mezclador de aire-oxígeno de la reanimadora a 21% o 100% de oxígeno, sin que el equipo de reanimación tuviera conocimiento de la concentración de gas que utilizaban (22).

TABLA I. *Estudios prospectivos realizados comparando la reanimación con aire ambiental frente a oxígeno puro en recién nacidos asfixiados*

<i>Autor</i>	<i>Revista</i>	<i>Año</i>	<i>Población</i>	<i>Tipo de estudio</i>
Ramji S	Pediatr Res	1993	< 1000 g	Prospectivo Pseudo-aleatorizado No cegado
Saugstad OS	Pediatrics	1998	< 1000 g	Prospectivo Pseudo-aleatorizado No cegado
Vento M	Pediatrics	2001	Nacido a término	Prospectivo Aleatorizado Cegado
Vento M	Biol Neonate	2001	Nacidos a término	Retrospectivo Aleatorizado Cegado
Vento M	J Pediatr	2003	Nacido a término	Prospectivo Aleatorizado Cegado
Ramji S	Ind J Pediatr	2003	< 1000 g	Prospectivo Pseudo-aleatorizado Cegado

En todos los estudios se han excluido recién nacidos con malformaciones congénitas. En tres estudios además, se excluyeron gestantes y recién nacidos con hipertermia o con un pH de cordón umbilical superior a 7,05.

Entre los criterios de inclusión constaba la presencia de una bradicardia de menos de 80-100 latidos por minuto al nacimiento, hipotonía no responsiva a estímulos táctiles, apnea y palidez muco-cutánea. La valoración de Apgar al minuto resultó inferior a 4 en la mayoría de los recién nacidos.

#### a) *Resultados clínicos*

Los parámetros clínicos más relevantes que se han estudiado en los distintos trabajos (ver Figura 2) han sido: i) Apgar al minuto y cinco minutos; ii) tiempo de inicio del primer llanto; iii) tiempo de establecimiento de una respiración espontánea y mantenida (o tiempo total de reanimación); iv) frecuencia cardíaca; v) saturación de oxígeno y vi) mortalidad. En realidad lo que se ha valora-

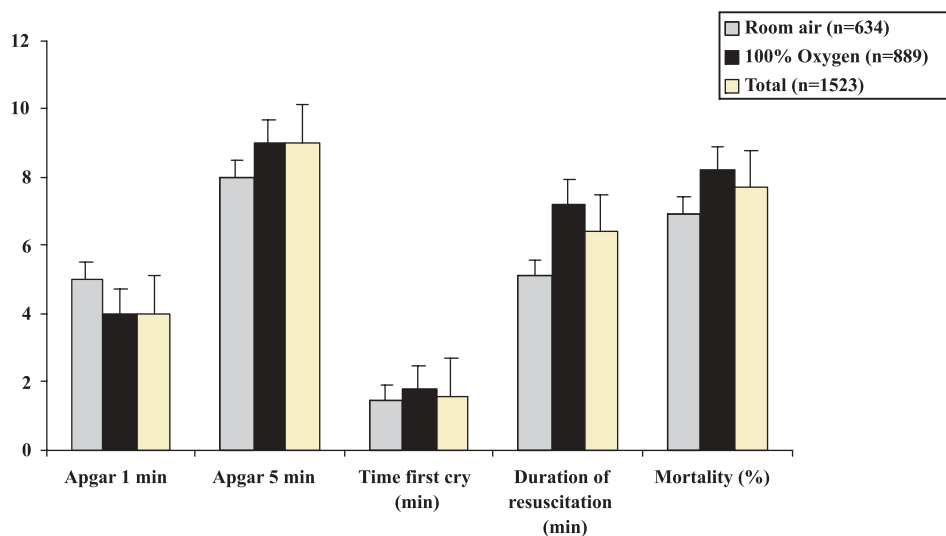


FIGURA 2. *Parámetros clínicos estudiados en recién nacidos asfixiados resucitados con aire ambiental versus 100% de oxígeno.* (Niermeyer S, Vento M J *Maternal-Fetal & Neonatal Medicine* 2004; Parthenon Publishing).

do ha sido el tiempo inicial de respuesta a la reanimación y el tiempo total que ha precisado el neonato asfíctico para establecer una autonomía respecto al equipo reanimador.

i) **Test de Apgar.** Los valores clínicos del test de Apgar (23) no han sido sustancialmente diferentes aunque se observa una tendencia a una disminución del Apgar al minuto en los pacientes reanimados con oxígeno al 100% y ello es debido a que la sobre-oxigenación puede reducir la respuesta de los quimiorreceptores periféricos carotídeos, retrasando el inicio de la respiración espontánea y alterar uno de los parámetros valorados por el test de Apgar (24, 25, 26, 27, 28, 29).

ii y iii) **Inicio del llanto y establecimiento de una respiración mantenida.** Tanto el tiempo para el inicio del primer llanto como para el establecimiento de una respiración autónoma mantenida fueron menores, en forma significativa, en el grupo reanimado con aire ambiente, en todos los ensayos realizados. Las diferencias pueden oscilar en el parámetro referido al primer llanto entre 24 segundos y 1 minuto de retraso en el grupo con oxígeno puro. Si consideramos el tiempo para establecer una respiración autónoma, y por lo tanto la duración de la reanimación, la media para el grupo reanimado con 100% de oxígeno fue de

$6.8 \pm 1.2$  minutos, mientras que en el grupo reanimado con aire ambiente fue de  $5.5 \pm 1.5$  minutos, lo que es altamente significativo. Si tenemos en cuenta la diferencia de tiempo y de concentración de oxígeno, los niños reanimados con oxígeno puro recibieron un promedio de 350 ml más de oxígeno que los neonatos reanimados con aire (27, 28, 29, 30, 31, 32).

iv) **Frecuencia cardíaca (FC).** Con toda seguridad el parámetro más fiable indicativo de éxito en la reanimación es la FC. Esta debe ser monitorizada de forma continua a lo largo del proceso de reanimación por auscultación, ya que incluso con los monitores más precisos, existe la posibilidad de fallos y, además, no siempre están disponibles.

Al minuto de vida, la mediana para la FC en una población que necesita desde un punto de vista clínico soporte ventilatorio al nacimiento está en torno a los 90 latidos por minuto (lpm) (percentil 10-90: 55-135 lpm). Estos recién nacidos están o bien bradicárdicos ( $FC < 80$ -100 lpm) o apnéicos. Después de 30 segundos, la FC se incrementa a 113 lpm (percentiles 10-90: 80-144 lpm), y 3 minutos después, el ritmo cardíaco se sitúa en 130 lpm (percentiles 10-90: 100-155 lpm). Por lo tanto, una reanimación con éxito incrementa la FC en una media de 23 lpm en los primeros 1.5 minutos, y en 40 lpm a los 3 minutos de vida. Aunque algunos estudios han mostrado claramente que la frecuencia cardíaca se normaliza con un ritmo idéntico ya sea con aire ambiente que con oxígeno puro, seguimos recomendando el uso de oxígeno al 100% en el caso de que a los 1.5 minutos de vida no se haya iniciado una recuperación adecuada de dicha frecuencia (33).

v) **Saturación de oxígeno.** La curva normal de saturación de oxígeno debería ser seguida con la mayor aproximación posible. La elaboración de esta curva de saturación está siendo realizada con nuestra base de datos y será publicada próximamente. En recién nacidos que precisan intervención al nacimiento, con un Apgar al minuto  $> 6$  y que recibieron aire ambiente con bolsa y mascarilla, la mediana de la  $SaO_2$  al minuto de vida fue del 65%, con unos percentiles 10-90 con una horquilla entre 43-80%. A los tres y cinco minutos la cifra de saturación era de 85% (percentiles 10-90: 60-90%) y de 90% (percentiles 10-90: 75-95%) respectivamente. En forma sorprendente, aquellos niños que fueron reanimados con oxígeno puro no tenían saturaciones más elevadas a los 10 minutos de vida. Esto parece indicar que un recién nacido no parece que deba tener saturaciones por encima del 90% incluso entre los 5 y 10 minutos de vida (33, 34).

vi) **Mortalidad.** En el meta-análisis de 1750 neonatos, se encontró una reducción significativa del 5% de la mortalidad en el grupo reanimado con

aire ambiental frente al reanimado con oxígeno puro. Esto se corresponde aproximadamente con una reducción del 40% de la mediana en mortalidad neonatal. Si tenemos en cuenta las cifras globales a nivel mundial podría representar cientos de miles de niños al año. La reducción de la mortalidad fue equivalente en prematuros por encima de 1000 g y nacidos a término. En recién nacidos con un valor de Apgar al minuto  $< 4$ , es decir, aquellos con una asfixia más severa, no encontramos diferencias entre ambos grupos, aunque dada la tendencia a manifestar un Apgar al minuto más bajo en el grupo de pacientes reanimados con oxígeno puro, estas cifras no son totalmente comparables. Otro dato muy importante es que la reducción de la mortalidad no sólo afectó a recién nacidos de países en claro subdesarrollo o en vías de desarrollo, sino que en países industrializados con total disponibilidad de medios sofisticados a su alcance, la reducción de la mortalidad fue igualmente significativa. Así, en España, la mortalidad media estuvo en el 2%. Sin embargo, en el grupo reanimado con aire fue de 0.56% mientras que en el grupo reanimado con oxígeno al 100% fue de 3.5%. Teniendo en cuenta el número de nacimientos en los países industrializados, esta reducción de la mortalidad significaría salvar la vida de miles de recién nacidos en estos países anualmente (22).

b) *Resultados bioquímicos: gases en sangre*

Los neonatos asfícticos no han mostrado diferencias significativas en relación con el pH (evaluado como  $-\text{Log} [\text{H}^+]$ ), independientemente de la mezcla gaseosa utilizada para su reanimación. Tampoco se han observado diferencias significativas respecto a los valores de  $\text{P}_a\text{CO}_2$ . Sin embargo, la  $\text{P}_a\text{O}_2$  fue significativamente más elevada en los recién nacidos reanimados con 100% de oxígeno que en aquellos que lo fueron con aire ambiente, la que se mantuvo incluso a los 15 minutos de vida en el grupo que recibió 100% de oxígeno. La hiperoxemia se ha asociado a una serie de efectos negativos que incluyen un aumento del consumo de oxígeno y del ritmo metabólico, un incremento en la activación de leucocitos y células endoteliales, y una mayor formación de especies reactivas de oxígeno y de nitrógeno. Estas últimas son reguladores extremadamente importantes de las vías de señalización intracelular que modulan la síntesis de ADN y ARN, de proteínas, activación enzimática, e influyen directamente en el ciclo celular. El estrés oxidativo puede influir por lo tanto en el crecimiento y desarrollo de las células como inducir la muerte por apoptosis o necrosis (25, 26, 27, 28, 29, 30, 31).



c) *Resultados de estrés oxidativo*

Los estudios del estrés oxidativo se han basado en las determinaciones del triptido glutatión tanto en su forma reducida (GSH) como oxidada (GSSG), cuyo cociente (GSH/GSSG) es uno de los parámetros más fiables de estrés oxidativo intracelular. Asimismo, hemos estudiado las enzimas relacionadas con el ciclo redox del glutatión en su totalidad. Así, glutatión oxidasa (GPx), glutatión reductasa (GSH-reductasa) y glutatión transferasa (GSH-transferasa). De igual manera hemos evaluado, en los distintos trabajos, la actividad de enzimas antioxidantes como indicadores indirectos de la presencia de un estrés oxidativo. Así, se ha estudiado la actividad de la superóxido dismutasa (SOD) y catalasa (CAT) (27, 28, 30, 31). Finalmente, el daño oxidativo al ADN se ha determinado mediante la valoración de la excreción urinaria de 8-oxo-di-hidroguanosina, una base oxidada del ADN (35).

La asfisia intraparto produce una disminución significativa del cociente GSH/GSSG indicativa de estrés oxidativo en el postparto inmediato, sin haber diferencias significativas entre los neonatos reanimados con aire ambiente o con oxígeno a los 3 días de vida postnatal. Sin embargo, desde un primer momento se observa una mayor activación de los enzimas redox del ciclo del glutatión así como la actividad de las enzimas antioxidantes en el grupo reanimado con oxígeno puro. Esta activación correlaciona significativamente con el tiempo de duración de la reanimación así como con las cifras de  $P_aO_2$ , sugiriendo que la hiperoxemia es un factor causal de estrés oxidativo (28). Estudios realizados a largo plazo demuestran que a las cuatro semanas de vida postnatal, los valores del cociente GSH/GSSG siguen siendo indicativos de estrés oxidativo en los neonatos que fueron reanimados con oxígeno puro mientras que, los que fueron reanimados con aire ambiente no presentan esta alteración (27). Idéntico resultado se ha observado con la eliminación urinaria de 8-oxo-di-hidroguanosina, que es significativamente más elevada en los pacientes que fueron reanimados con oxígeno puro, incluso a las ocho semanas de vida postnatal (26, 35).

d) *Resultados en relación con la morbilidad a largo plazo*

El seguimiento de pacientes asfixiados reanimados con aire ambiente o con oxígeno al 100% ha sido motivo de un estudio publicado recientemente (36). Un total de 213 pacientes (91 reanimados con aire ambiente —42, 7%— y 122 con oxígeno puro —57, 3%) fueron evaluados con un cuestionario diseñado expresamente para el estudio. El cuestionario utilizado era muy sencillo y pretendía detectar trastornos neurológicos obvios. Se registró la edad a la que se alcanza-

ron los hitos o puntos clave del desarrollo. Se definió la prensión inteligente con el oponente del pulgar; se contaron las palabras del vocabulario del niño/a y si podía formar frases de dos palabras; la audición se registró si la madre observaba que el niño/a se giraba al sonido de una campana; la marcha se consideró normal si el paciente era capaz de estar de pie sólo y sin apoyo. Se diagnosticó *parálisis cerebral* (PC) si el examinador encontró al paciente espástico y con un incremento de los reflejos tendinosos profundos. Se revisó el desarrollo mental mediante una entrevista sencilla con el examinador. Se anotó cualquier patología que pudiera tener relevancia como septicemia / meningitis, error innato del metabolismo, traumatismos craneales, malnutrición grave u otras causas que pudieran provocar un retraso en el desarrollo. El examinador incluyó en la evaluación un estudio clínico neurológico exhaustivo (36).

No hubo diferencias significativas en cuanto al logro de hitos del desarrollo, uso de la pinza inteligente o marcha entre los grupos de aire ambiente y oxígeno puro. Asimismo, tampoco se detectaron diferencias respecto a la adquisición del lenguaje o en la capacidad auditiva (36).

De los pacientes, 17 desarrollaron parálisis cerebral y uno, hemiparesia. Nueve pertenecían al grupo de aire ambiente (siete con di/hemiplejia espástica, uno con cuadriplejia espástica y otro con parálisis cerebral mixta), y nueve al grupo de oxígeno puro (seis con diplejia espástica; dos con PC mixta y uno con hemiparesia), sin diferencias significativas entre ambos. Dos pacientes en cada grupo presentaron convulsiones febriles. Otros trastornos neurológicos como retraso mental o retraso motor grave fueron hallados en cinco pacientes del grupo de aire ambiente y cuatro niños del grupo de oxígeno puro. De todo ello se concluye que no existen diferencias significativas en el neurodesarrollo de los pacientes asfícticos independientemente del tipo de reanimación utilizado (36).

## 5. CONCLUSIONES

La reanimación con aire ambiental del recién nacido asfixiado a término, o prematuro de más de 1000 g es tan segura y eficaz a corto y largo plazo como se demuestra en los trabajos publicados hasta la fecha. Es más, el uso del aire ambiente favorece el inicio precoz de la respiración espontánea (tiempo para el primer llanto) y reduce el tiempo de reanimación (tiempo de establecimiento de un patrón mantenido de respiración espontánea). Con el empleo de aire ambiente se reduce, en promedio, 380 ml la cantidad de oxígeno puro recibido durante la reanimación. El seguimiento de estos pacientes a los 18-24 meses no indica di-

ferencias significativas en el neurodesarrollo ni en la incidencia de parálisis cerebral o trastornos importantes del desarrollo mental o motor.

Respecto a la mortalidad, los estudios de meta-análisis indican que la reanimación con aire ambiente reduce significativamente la mortalidad. No se trata de estudios aleatorizados en su totalidad (algunos estudios incluyen pseudo-aleatorización) y el número de pacientes no es el óptimo, pero con todo los resultados a favor del aire ambiente son significativos y deben ser tenidos en cuenta.

Finalmente, la presencia de un mayor grado de estrés oxidativo a corto y largo plazo en los pacientes que recibieron oxígeno puro frente a los que recibieron aire ambiente, nos debe llevar a reflexionar acerca de la posibilidad de que estemos induciendo en un periodo especialmente sensible de la vida (transición fetal-neonatal) cambios en la señalización celular que puedan provocar trastornos a largo plazo de consecuencias imprevisibles.

## **6. PATOLOGÍA CRÓNICA PULMONAR Y OXIGENOTERAPIA EN EL RECIÉN NACIDO PREMATURO**

En 1967, Northway y colaboradores, describieron por primera vez una enfermedad respiratoria crónica nueva, la displasia broncopulmonar (DBP), que afectaba a recién nacidos prematuros expuestos a ventilación mecánica y oxigenoterapia (37). Dos décadas después, los mismos autores encontraron que los signos clínicos y las anomalías funcionales características de esta enfermedad persistían en muchos pacientes hasta la adolescencia e incluso la edad adulta sugiriendo que la patología que acontece en los primeros años de la vida puede tener consecuencias a largo plazo (38). La DBP es la enfermedad crónica pulmonar más frecuente en la infancia en los países occidentales y es la causa más frecuente de enfermedad crónica pulmonar en la infancia. Lamentablemente, las diferentes definiciones que se han venido utilizando en la literatura científica en el pasado han contribuido a la variabilidad en las características de la población reflejada en distintos estudios. En la actualidad, tras el consenso internacional sobre su definición, se entiende por DBP como «la necesidad de oxígeno suplementario al menos durante 28 días después del nacimiento, y su severidad está relacionada con la necesidad de apoyo respiratorio necesaria al alcanzar las 40 semanas postconcepcionales (Figura 3). Por lo tanto, el diagnóstico neonatal de DBP nos va a identificar a la mayor parte de pacientes con un riesgo elevado de tener patología crónica en edades posteriores de la vida. Sin embargo, la necesidad prolongada de oxígeno no siempre nos va a identificar con precisión la evolución a largo plazo

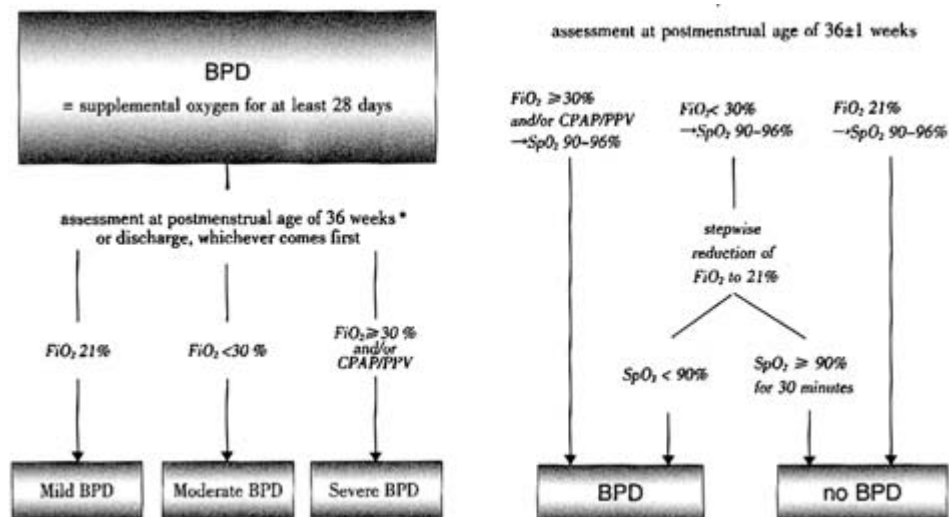


FIGURA 3. Comparación de las definiciones de displasia broncopulmonar de acuerdo con la conferencia de consenso del National Institute of Child Health and Human Development (izquierda) [Ehrenkrantz RA et al Pediatrics 2005; 116: 1353-60] y la definición «fisiológica» de Walsh y colaboradores (derecha) [Walsh MC et al Pediatrics 2004; 114: 1305-11] Modificado de Thomas W & Speer CP Chin J Contemp Pediatr 2007.

de la enfermedad, y no existen, hoy por hoy, marcadores precisos de daño pulmonar que sean predictivos. De hecho, algunos pacientes diagnosticados de DBP cumpliendo estrictamente todos los criterios no desarrollarán patología crónica y tendrán una recuperación funcional y clínica completas, mientras que por el contrario, la aparición de síntomas respiratorios tardíos y anomalías en las pruebas de función pulmonar pueden aparecer en pacientes que no llegaron a necesitar oxígeno suplementario en el periodo neonatal (39).

## 6.1. Patogénesis: generalidades

La DBP en la actualidad afecta principalmente a prematuros por debajo de las 28 semanas de gestación coincidiendo con la etapa de desarrollo pulmonar en la que finaliza la etapa canalicular y comienza la sacular que se caracteriza por el inicio del proceso de alveolarización de los sáculos y el desarrollo de la vascularización alveolar. La agresión resultante del nacimiento prematuro especialmente secundaria a la oxigenación y ventilación mecánica interrumpirá la secuencia normal de acontecimientos que caracteriza al desarrollo pulmonar dan-

do lugar a un pulmón histológicamente simplificado que posee menos alvéolos pero más grandes y con escasa septación y una notable disminución de la densidad capilar. Por lo tanto, la génesis de la DBP se debe a una alteración de la fase de desarrollo de la parte respiratoria pulmonar que se caracteriza por la septación alveolar que aumenta exponencialmente la superficie de intercambio pulmonar y el desarrollo del lecho capilar pulmonar que permite la hematosis. En la actualidad, la teoría más aceptada y que permite explicar los acontecimientos fisiopatológicos que suceden tras el parto prematuro tienen como protagonista, aparte de la elastina y el PGF (platelet derived growth factor) al desarrollo de los vasos pulmonares en la zona distal del parénquima pulmonar, un mecanismo que se podría denominar «erección capilar» por analogía a lo que sucede en la transición fetal neonatal con el incremento del flujo sanguíneo pulmonar. Ciertamente, las evidencias más recientes sugieren que los vasos pulmonares promueven de forma activa el desarrollo alveolar y contribuyen al mantenimiento de las estructuras alveolares a lo largo de toda la vida. El hecho de que las interacciones entre las vías aéreas y los vasos sanguíneos sean críticas para el normal desarrollo del pulmón, y que en la DBP ocurren anomalías combinadas de ambas sugieren: (i) que la angiogénesis es importante para la alveolarización normal; (ii) que una disminución de la angiogénesis durante la DBP puede conducir a una disminución de la alveolarización y (iii) que incrementando el proceso de angiogénesis se puede promover la alveolarización y revertir la DBP a nivel experimental (40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47).

## **6.2. Papel de la angiogénesis y factores de crecimiento vascular durante el desarrollo alveolar, daño y reparación**

### **6.2.1. *VEGF y sus receptores son elementos esenciales para la formación vascular***

El factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) es un mitógeno altamente específico y un factor de supervivencia para las células del endotelio vascular. VEGF se une a los receptores tirosin kinasa de transmembrana, VEGFR-1 (Flt-1) y VEGFR-2 (Flk-1/KDR) que se expresan en el endotelio vascular. Su inactivación experimental (estudios en ratones knock out) causa fenotipos letales caracterizados por una deficiente organización del endotelio vascular. La relación espacial entre receptor y ligando sugiere que VEGF juega un papel importante en el desarrollo del lecho capilar alveolar, de hecho VEGF 120; VEGF 164 y VEGF 188 están presentes en los neumocitos tipo II y su pico de expre-

sión coincide con la fase canalicular cuando acontece el mayor crecimiento vascular en el pulmón. Así, estudios recientes post-mortem de recién nacidos que habían estado con ventilación mecánica revela la reducción de la ramificación de las arteriolas pulmonares al tiempo que el contenido de proteína PECAM -1 («platelet endothelial adhesión molecule 1», un marcador de las células endoteliales) estaba disminuido en niños que habían fallecido después de un breve periodo de ventilación mecánica, pero estaba incrementado si la ventilación mecánica había sido prolongada. Estos hallazgos sugieren un descenso transitorio de la proliferación endotelial seguido de un incremento brusco de la misma a pesar de la reducción del número de vasos. En acuerdo con estos hallazgos, estudios experimentales y en humanos muestran un descenso de la expresión de VEGF y sus receptores en la patología crónica pulmonar del recién nacido. Así, un descenso en la expresión de VEGF se ha encontrado tanto en los alvéolos de tipo II de conejos recién nacidos expuestos a oxígeno al 100% durante 9 días como en pulmones de rata en circunstancias similares. Los prematuros que desarrollan DBP en algunos estudios, aunque no en todos, tienen niveles más bajos de VEGF que aquellos que sobreviven sin DBP. En el tejido pulmonar de pacientes que fallecieron de DBP el patrón típico de simplificación alveolar y micro-vascularización dismórfica están asociados con una expresión disminuida del mRNA y de expresión proteica de VEGF y VEGFR-1. Igualmente, en los aspirados traqueales de prematuros que han fallecido de distrés respiratorio severo hay niveles más bajos de VEGF que en aquellos que han sobrevivido, e inferiores en pacientes que sobreviven con DBP frente a pacientes que no desarrollan la enfermedad (48, 49, 50, 51).

#### 6.2.2. *El papel del oxígeno y radicales libres de oxígeno en la génesis de la DBP. Las defensas antioxidantes en el pulmón*

La hipoxia es el mayor estímulo para la expresión de VEGF. La exposición prematura del pulmón en desarrollo a un ambiente hiperóxico puede producir una regulación a la baja («down-regulation») de la expresión de VEGF. Es más, incluso en ambiente del 21% de oxígeno (aire ambiente) se puede producir una interferencia con el normal desarrollo de los vasos pulmonares (52, 53).

La toxicidad por oxígeno a las células está mediada por la acción de las especies reactivas de oxígeno y de nitrógenos (ERO/ERN) que se generan de forma endógena como se ha descrito en párrafos anteriores tanto en condiciones fisiológicas como patológicas. Más aún, en situaciones de hiperoxia, la producción de radical superóxido por la cadena respiratoria mitocondrial está amplifi-

cada. La localización anatómica del tejido pulmonar lo pone en contacto directo con el oxígeno inhalado, haciendo de las células pulmonares dianas primarias para la lesión inducida por el oxígeno. El grado de daño producido dependerá de la concentración de oxígeno y del tiempo de exposición. En general, concentraciones superiores al 95% por periodos de 3 a 7 días son letales para animales adultos que fallecerán con signos progresivos de insuficiencia respiratoria, mientras que la mayoría de las especies pueden sobrevivir largos periodos de tiempo en concentraciones de 50-85% de oxígeno por varias semanas. En estos animales los hallazgos histopatológicos revelan una proliferación de los neumocitos tipo II y fibroblastos, por un incremento de los depósitos de colágeno en el intersticio que conduce a una fibrosis y una hipertensión pulmonar secundaria (53, 54, 55, 56, 57, 58)

La maduración del surfactante pulmonar durante el tercer trimestre del desarrollo fetal es de una gran importancia para la supervivencia del neonato muy inmaduro (59). Igualmente, la expresión de la mayoría de los enzimas antioxidantes está incrementada en este periodo de tiempo como preparación para un parto inminente. Sin embargo, la respuesta de las defensas antioxidantes frente a la hiperoxia varía notablemente de unas especies a otras, y con la edad dentro de la misma especie (60). En los estudios más diversos realizados en humanos se han podido hallar resultados muy diversos que abarcan desde un incremento de la actividad, ausencia de cambios o disminución (61).

En estudios realizados por nuestro grupo hemos podido detectar una disminución de la actividad de los enzimas antioxidantes en recién nacidos extremadamente prematuros ( $\leq 28$  semanas de gestación). En este grupo de pacientes se determinó en sangre de cordón la actividad de superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT) y glutatión peroxidasa (GPx) observándose diferencias significativas respecto a recién nacidos a término. Sin embargo, la administración de corticoides prenatales en dosis completas era capaz de activar la expresión de estas enzimas de forma significativa, explicando uno de los efectos favorables de los esteroides prenatales para la supervivencia del gran prematuro (62, 63).

### 6.2.3. *Epidemiología y clínica*

La DBP se desarrolla en un 20% de todos los recién nacidos con un peso inferior a 1500 gramos al nacimiento. Ello supone en Estados Unidos unos 60.000 pacientes por año, y una cifra similar en Europa (64). El tratamiento de estos pacientes es altamente complejo y requiere un gran esfuerzo y coordina-



ción de los servicios sanitarios, ya que las consecuencias de esta enfermedad no sólo se traduce por problemas respiratorios. Estos pacientes presentan retraso en el crecimiento, hipertensión pulmonar, retraso en el neurodesarrollo, defectos auditivos, y retinopatía de la prematuridad con defectos importantes de refracción e incluso ceguera por lo que requieren un seguimiento multidisciplinar en unidades especializadas, y frecuentes reingresos por agravamiento de su estado general y/o complicaciones concomitantes a su patología (39).

Diversos estudios revelan un incremento en la presencia de tos crónica y presencia de sibilantes en la edad pre-escolar y escolar en niños que fueron prematuros, y especialmente en aquellos con DBP. La presencia de síntomas similares al asma y el uso de inhaladores (broncodilatadores y corticoides) es significativamente superior en este grupo de individuos que en la población general. Una tendencia a la mejoría acontece con el paso del tiempo y en la edad post-adolescencia la incidencia de patología se iguala con la de la población general (39).

Se puede concluir que con el nacimiento prematuro se produce una interrupción del normal desarrollo pulmonar en una fase en la que el desarrollo vascular va a ser el eje guía principal del desarrollo alveolar. Los factores esenciales que regulan este desarrollo serán los derivados de la expresión de VEGF y sus receptores, extraordinariamente sensibles a la concentración de oxígeno. La administración de oxígeno y la ventilación mecánica causarán un estrés oxidativo en gran medida debido a la inmadurez del sistema antioxidante del prematuro. Ello conducirá a un proceso de detención en el progreso de la formación alveolar y fibrosis intersticial que definirá la displasia broncopulmonar. Como consecuencia se producirá una patología crónica recurrente tipo asma que se prolongará hasta la post-adolescencia requiriendo una vigilancia por equipos multidisciplinarios (64).

## **7. OXIGENOTERAPIA NEONATAL Y CÁNCER EN LA EDAD INFANTO-JUVENIL**

### **7.1. Generalidades: estrés oxidativo y cáncer**

La correlación entre especies reactivas de oxígeno y de nitrógeno y el desarrollo del cáncer en el ser humano ha ido adquiriendo mayor carta de naturaleza en años recientes, especialmente cuando se ha ido descubriendo el importante papel que juegan los antioxidantes en la prevención o retardo en la aparición de ciertos tipos de neoplasias (65). Las especies reactivas de oxígeno



(ERO) y nitrógeno (ERN) comparten muchas de las características de los carcinógenos y la mutagénesis desencadenada por su acción sobre moléculas como el DNA puede ser un importante factor contributorio al desarrollo del cáncer. Podemos afirmar que:

- (i) ERO y ERB pueden causar alteraciones estructurales del DNA (mutaciones de pares de bases, re-estructuración, deleciones, inserciones o amplificaciones de secuencia). Los ERO pueden producir alteraciones groseras del DNA pero también mutaciones puntuales y, por lo tanto podrían estar implicados en la inactivación o pérdida del alelo «wild-type» de un proto-oncogen mutado o un gen «tumor-suppressor» y de este modo facilitar la promoción y progresión del fenotipo mutado;
- (ii) ERO y ERN pueden afectar las vías de transducción citoplásmica y nuclear. Así, por ejemplo, el peróxido de hidrógeno que es capaz de atravesar las membranas de las organelas con gran facilidad, puede conducir al desplazamiento de la subunidad inhibitoria del factor de transcripción citoplásmico NFκB permitiendo que el factor activado migre al núcleo;
- (iii) ERO y ERN pueden modular la actividad de las proteínas y genes que responden al estrés y que actúan para regular los genes que están relacionados con la proliferación celular, diferenciación y apoptosis (65).

Las leucemias son las formas más frecuentes de cáncer en individuos por debajo de los 15 años en países occidentales (66, 67, 68) Aunque representan prácticamente un tercio de todos los cánceres en este rango de población, las causas de la mayoría de las leucemias no están todavía esclarecidas (69, 70, 71) Muy diversos factores han sido implicados en incrementar el riesgo de génesis de las leucemias. Así, (i) factores constitucionales como el género masculino; raza blanca; tener un bajo peso al nacimiento; (ii) factores genéticos como tener un gemelo univitelino con leucemia o diversos trastornos hereditarios como el síndrome de Down, anemia de Fanconi, síndrome de Bloom, ataxia telangiectasia, síndrome de Klinefelter, síndrome de Swachman, neurofibromatosis, trisomía 22, síndrome de Rubinstein Taybi o síndrome de Poland; (iii) factores ambientales como historia materna de subfertilidad, exposición a radiaciones ionizantes o campos electromagnéticos. En este sentido, el trabajo realizado por Zack y colaboradores (72) fue totalmente pionero en este campo. Los autores realizaron un estudio epidemiológico en el que analizaron los factores de riesgo para el desarrollo de leucemia en la población infantil de Suecia basándose en factores de riesgo perinatales. En el registro

nacional de cáncer infantil de Suecia, se identificaron 411 casos de leucemia en edad pediátrica entre los años 1973-1984 (Swedish National Cancer Registry). Los partos y sus características estaban incluidos en el registro nacional de nacimientos (Swedish National Birth Registry) y de ellos se pudieron sacar los factores de riesgo y correlacionarlos con la aparición de leucemia. Los resultados indicaron que las madres de los niños que desarrollaron esta enfermedad habían sido tratadas más frecuentemente con óxido nitroso [(OR: 1.3; 95% de intervalo de confianza (IC) 1.0, 1.6]. Los niños que desarrollaron leucemia padecían con mayor frecuencia de Síndrome de Down (trisomía 21) [OR: 32.5; 95% CI: 7.3, 144], tener un labio leporino con o sin hendidura palatina [OR: 5.0; 95% CI: 1.0, 24.8], y haber tenido un parto con complicaciones pero sin ningún factor específico indicado. Sin embargo, dentro de este último apartado un tanto abigarrado, destacaba la utilización de oxígeno en la reanimación [OR: 2.6; 95% CI: 1.3, 4.9]. Este fue el punto de partida para estudios posteriores que se detallaran a continuación.

## **7.2. Estrés oxidativo perinatal y reanimación con oxígeno puro**

La asfixia intraparto se caracteriza por periodos intermitentes de hipoxia-isquemia y reoxigenación, que si se prolongan en exceso pueden tener graves consecuencias para el recién nacido. Durante los periodos de hipoxia se acumulan derivados purínicos del adenosin-trifosfato en forma de hipoxantina, adenosina, etc.. Durante la reoxigenación la xantina reductasa encargada del metabolismo de estos sustratos es transformada en xantina oxidasa por la acción de unas proteasas específicas, pasando a utilizar el oxígeno como sustrato en lugar del NADPH. La acción de la xantina oxidasa sobre estos sustratos va a generar cantidades extraordinarias de anión superóxido que en presencia de ión ferroso dará lugar a la formación de radicales hidroxilo mediante la química de Fenton (ver apartado I). Esta elevada concentración de radicales libres puede sobrepasar la capacidad antioxidante del recién nacido, especialmente si es prematuro y tiene un sistema antioxidante inmaduro causando un estrés oxidativo. En 2001 se publicó por nuestro grupo un trabajo prospectivo aleatorizado y cegado en el que la hipótesis de trabajo era que la utilización de aire ambiente (fracción inspiratoria de O<sub>2</sub>: 21%) en la reanimación del recién nacido sería igualmente eficaz en la recuperación clínica del paciente, y además causaría menor estrés oxidativo. Los resultados del trabajo nos revelaron que el aire ambiente era realmente eficaz para reanimar a los neonatos, pero que al mismo tiempo se producía una disminución del estrés oxidativo

medido por el cociente glutatión reducido/glutatión oxidado, y una disminución de la actividad de las enzimas antioxidantes superóxido dismutasa, catalasa y glutatión peroxidasa. Pero quizá lo más sorprendente fue el hecho de que cuando 4 semanas después del parto se realizaban controles analíticos de los parámetros de estrés oxidativo, aquellos pacientes que habían sido reanimados con oxígeno al 100% mantenían valores propios de una situación pro-oxidante frente a los que habían sido reanimados con aire ambiente, que mostraban valores iguales a los controles normales no reanimados (27). Se especuló en este trabajo que, probablemente, el estrés oxidativo causado durante la reanimación podía desencadenar procesos biológicos en un momento especialmente sensible como era la transición fetal-neonatal y conducir a efectos desconocidos a largo plazo. En estudios posteriores de nuestro grupo se ha podido constatar que el estrés oxidativo se correlaciona muy estrechamente con la hyperoxemia desencadenada durante la reanimación y que puede causar daño evidente a órganos como el miocardio con elevación de las troponinas cardíacas y al riñón con elevación de la n-acetil-glucosaminidasa (9, 32).

En este contexto la formación de ERO en la reanimación y la persistencia de la situación pro-oxidante, podría perfectamente constituir el disparadero para la aparición de alteraciones del DNA que condujeran a la aparición de cáncer en edades posteriores.

### **7.3. Estudios que correlacionan la utilización de oxígeno en el periodo neonatal y la incidencia de leucemia en la edad infanto-juvenil**

El estudio inicial de Zack y cols. fue reanudado por el grupo de investigadores suecos liderados por Estelle Naumburg de la Universidad de Uppsala (73). Se recogieron 578 casos de niños nacidos en Suecia entre 1973 y 1989 que habían sido diagnosticados de leucemia linfoblástica y ajustados por género y fecha de nacimiento a controles normales. Se excluyó a niños con Síndrome de Down por la elevada incidencia de leucemia en este subgrupo. Se recogieron de forma cegada datos antenatales, obstétricos y de otros registros médicos. Se realizaron comparaciones estadísticas utilizando el “odds ratio” (OR) y los intervalos de confianza del 95% mediante regresión logística condicional. Los autores concluyeron que la utilización de oxígeno al 100% mediante mascarilla y bolsa de ventilación inmediatamente después del parto se asociaba de forma significativa con un riesgo más elevado de desarrollar leucemia infanto-juvenil (OR=2.57; 95% IC 1.21-6.82) El riesgo se veía notablemente incrementado si la ventilación manual duraba más de 3 minutos o

más (OR=3.54; IC 95%: 1.16-10.80). Sin embargo, puntajes de Apgar bajos al minuto y 5 minutos no se asociaban a un riesgo mayor de desarrollar leucemia linfoblástica. No se encontraron otras asociaciones ni en el uso en edades posteriores de oxígeno suplementario ni en otros factores relacionados con el nacimiento.

Dos pequeños estudios realizados en Japón también encontraron una correlación entre la duración de la oxigenoterapia en el periodo neonatal y la aparición de hepatoblastoma en niños prematuros. El grupo de Osaka (74) apreció un incremento en la incidencia de hepatoblastoma en niños de bajo peso en los últimos años, que ha alcanzado 0.5% en su institución. Se realizó por el Dr. Oue y colaboradores una revisión de la casuística de HB y los factores perinatales. En 5 pacientes de edades gestacionales comprendidas entre 23 y 29 semanas de gestación aquejados de hepatoblastoma se pudo demostrar un periodo de oxigenoterapia significativamente superior a la media de pacientes de similares edades de gestación que no habían desarrollado malignidad. Los estudios del Dr. Maruyama (75) coinciden en que los prematuros que desarrollan malignidades han recibido oxigenoterapia por periodos sensiblemente superiores a los que no desarrollan. Otros estudios aislados han encontrado resultados similares (76, 77, 78, 79).

El estudio más completo realizado que ha intentado correlacionar cáncer y oxígeno en la edad infantil fue recientemente publicado por Spector y cols. y formaba parte del llamado Collaborative Perinatal Project (CPP) (80, 81). El CPP reclutó aproximadamente unas 48.000 mujeres que resultaron en unos 60.000 partos en 12 maternidades afiliadas a centros universitarios entre 1959 y 1966. En el estudio, observadores especialmente entrenados registraban en la sala de partos detalles especificados en estudios previos mediante una metodología estandarizada de 54.795 recién nacidos. Los niños eran revisados físicamente en diversas ocasiones durante el primer año de vida y de nuevo a los 7 años. Los padres eran entrevistados varias veces en los dos primeros años de vida y después anualmente hasta que el niño cumplía de 8 años. Se registró la utilización de oxígeno suplementario con respecto al modo de su administración («open oxygen» es decir flujo libre al niño; «positive pressure oxygen», es decir oxígeno administrado mediante mascarilla o bolsa anestésica con presión positiva en la vía respiratoria) y la duración de la misma. En 1.818 casos (3.3%) no se pudo registrar la administración de oxígeno pero ninguno de estos casos tuvo cáncer.

Se diagnosticó cáncer en 48 pacientes dentro de los primeros 8 años de vida, y 41 entre el primer y octavo año de vida (ver Tabla 2).

TABLA 2. *Incidencia de cáncer diagnosticado en el Collaborative Perinatal Project (ref. 80, 81)*

<i>Tipo de cáncer</i>	<i>N diagnosticado a la edad de 0-8 años</i>	<i>N diagnosticado a la edad de 1-8 años</i>
Leucemia	16	15
Sistema nervioso central	8	4
Neuroblastoma	6	5
Tumor de Wilms	6	6
Linfoma	5	5
Retinoblastoma	3	2
Otros	4	4
Total	48	41

El cociente de riesgo («hazard ratio»; HR) para cualquier oxígeno administrado fue de 1.77 (95 CI: 0.94-3.35) y para la administración continuada de casi 1 pero no significativo. Sin embargo el cociente de riesgo se incrementaba cuando más duraba el tiempo de administración de oxígeno. Así, el HR era de 0.69 (95% IC: 0.17 -2.88) y 2.87 (95% CI: 1.46-5.66) cuando se comparaba de 0-2 y 3 o más minutos de oxígeno en relación con ausencia de administración de oxígeno. Los autores concluyen que existe una correlación significativa entre la administración de más de 3 minutos de oxígeno en el paritorio y la aparición de cáncer en la edad infanto-juvenil.

## 8. BIBLIOGRAFÍA

- (1) NAVARRO A., BOVERIS A. (2007): The mitochondrial energy transduction system and the aging process. *Am. J. Physiol Cell Physiol*; 292: 670-686.
- (2) BOEKEMA E. J., BRAUN H. P. (2007): Supramolecular structure of the mitochondrial oxidative phosphorylation system. *J. Biol. Chem.*; 282: 1-4.
- (3) GRASSI B. (2006): Oxygen uptake and kinetics. *J. Physiol Pharmacol*; 57 (Suppl 10): 53-65.
- (4) LI C., JACKSON R. M. (2002): Reactive species mechanisms of cellular hypoxia-re-oxygenation injury. *Am J Physiol Cell Physiol*; 282: C227-C241.
- (5) JANKOV R. P., NEGUS A., TANSWELL A. K. Antioxidants as therapy in the newborn: some words of caution.

- (6) FELLMAN V., RAIVIO K. (1997): Reperfusion injury as the mechanism of brain damage after perinatal asphyxia. *Pediatr Res*; 41: 599-606.
- (7) SAUGSTAD O. D. (1998): Resuscitation with room-air or oxygen supplementation. *Clin. Perinatol*; 25: 741-756.
- (8) CUZZOCREA S., RILEY D. P., CAPUTI A. P., SALVEMINI D. (2001): Antioxidant therapy: a new pharmacological approach in shock, inflammation, and ischemia-reperfusion injury. *Pharmacol Rev.*; 135- 159.
- (9) SAUGSTAD O. D. (2001): Is oxygen more toxic than currently believed? *Pediatrics*; 108:1203-1205.
- (10) THANNICKAL V. J., FANBURG B. L. (2000): Reactive oxygen species in cell signalling. *Am J. Lung Cell Mol Physiol*; 279: L1005-L1028.
- (11) NIERMEYER S., VENTO M. (2004): Is 100% Oxygen necessary for the resuscitation of asphyxiated newly born infants? *J Maternal-Fetal & Neonatal Med.*; 15: 1-10.
- (12) SAUGSTAD O. D. (2003): Oxygen toxicity at birth: the pieces are put together. *Pediatr. Res*; 54: 789.
- (13) STIPANUK M. H., DOMINY J. E., LEE J. I., COLOSO R. M. (2006): Mammalian cysteine metabolism: new insights into regulation of cysteine metabolism. *J. Nutr*; 1652S-1659S.
- (14) AHA/AAP (2000): Neonatal Resuscitation Program Steering Committee. Textbook of neonatal resuscitation, 4<sup>th</sup> ed. Elk Grove Village, Ill: *American Academy of Pediatrics*.
- (15) NIERMEYER S., KATTWINKEL J., VAN REEMPTS P., NADKARNI V., PHILLIPS B., ZIDEMAN D., *et al.* (2000): International Guidelines for Neonatal Resuscitation: An excerpt from the Guidelines 2000 for cardiopulmonary resuscitation and emergency cardiovascular care: international consensus on science. Contributors and Reviewers for the Neonatal Resuscitation Guidelines. *Pediatrics*; 106: e29.
- (16) KATTWINKEL J., NIERMEYER S., NADKARNI V., TIBBALLS J., PHILLIPS B., ZIDEMAN D., *et al.* (1999): ILCOR advisory statement: resuscitation of the newly born infant: an advisory statement from the pediatric working group of the International Liaison Committee on Resuscitation. *Circulation*; 99: 1927-1938.
- (17) RAJU T. N. K. (1999): History of resuscitation. Tales of heroism and desperation. *Clin Perinatol*; 26:629-40.
- (18) SAUGSTAD O. D. (1988): Hypoxanthine as an indicator of hypoxia: its role in health and disease through free radical production. *Pediatr Res*; 23:143-150.
- (19) DOHLEN G., CARLSEN H., BLOMHOFF R., THAULOW E., SAUGSTAD O. D. (2005) Re-oxygenation of hypoxic mice with 100% oxygen induces brain nuclear factor kB. *Pediatr. Res.*; 58: 941-5.

- (20) MUNKEBY B. H., BORKE W. B., BJORNLAND K., SIKKELAND L. I., BORGE G. I., LOMO I., RIVERA S., KHRESTCHATISKY M., HALVORSEN B., SAUGSTAD O. D. (2005). Resuscitation of hypoxic piglets with 100% oxygen increases matrix metalloproteinases and IL8. *Pediatr. Res*; 58: 542-8.
- (21) FUGELSETH D., BORKE W. E., LENES K., MATTHEWS I., SAUGSTAD O. D., THAULOW E. (2005): Restoration of cardiopulmonary function with 21% versus 100% oxygen after hypoxemia in newborn pigs. *Arch Dis. Child Fetal Neonatal Ed*; 90: F229-34.
- (22) SAUGSTAD O. D., RAMJI S., SOLL R., VENTO M. (2008): Resuscitation of Newborn Infants with Ambient air or Pure Oxygen: An Updated Meta-analysis. *Neonatology*-in press.
- (23) APGAR V. A proposal for a new method of evaluation of the newborn infant. *Curr. Res. Anest. Analg.* 1953; 32: 260-7.
- (24) RAMJI S., AHUJA S., THIRUPURAM S., ROOTWELT T., ROTH G., SAUGSTAD O. D. (1993): Resuscitation of asphyxiated newborn infants with room air or 100% oxygen. *Pediatr Res*; 34: 809-12.
- (25) SAUGSTAD O. D., ROOTWELT T., AALEN O. (1998): Resuscitation of asphyxiated newborn infants with room air or oxygen: an international controlled trial: the Resair 2 study. *Pediatrics*; 102: e1.
- (26) VENTO M., ASENSI M., SASTRE J., GARCIA-SALA F., VIÑA J. (2001): Six years of experience with the use of room air for the resuscitation of asphyxiated newly born term infants. *Biol. Neonate*; 79: 261-7.
- (27) VENTO M., ASENSI M., SASTRE J., GARCIA-SALA F., PALLARDO F. V., VIÑA J. (2001): Resuscitation with room air instead of 100% oxygen prevents oxidative stress in moderately asphyxiated term neonates. *Pediatrics*; 107: 642-7.
- (28) VENTO M., SASTRE J., ASENSI M., LLORET A., GARCÍA-SALA F., VIÑA J. (2003): Oxidative stress in asphyxiated term infants resuscitated with 100% oxygen. *J. Pediatr*; 142: 240-6.
- (29) RAMJI S., RASAILY R., MISHRA P. K., NARANG A., JAYAM S., KAPOOR A. N., KAMBO I., MATHUR A., SAXENA N. C., SAXENA B. N. (2003): Resuscitation of asphyxiated newborns with room air or 100% oxygen at birth: A multicentric clinical trial. *Indian Pediatrics*; 40: 510-7.
- (30) VENTO M., ASENSI M., SASTRE J., LLORET A., GARCÍA-SALA F., MIÑANA J. B., VIÑA J. (2002): Hyperoxemia caused by resuscitation with pure oxygen may alter intracellular redox status by increasing oxidized glutathione in asphyxiated newly born infants. *Semin. Perinatol.*; 26: 406-10.
- (31) VENTO M., SASTRE J., ASENSI M. A., VIÑA J. (2005): Room-air resuscitation causes less damage to heart and kidney than 100% oxygen. *Am. J. Respir. Crit. Care. Med.*; 172: 1393-8.



- (32) SAUGSTAD O. D., RAMJI S., ROOTWELT T., VENTO M. (2005): Response to resuscitation of the newborn: early prognostic variables. *Acta Paediatr*; 94: 890-5.
- (33) BOOKATZ G. B., MAYER C. A., WILSON CG, VENTO M, GELFAND SL, HAXHIU MA, MARTIN RJ. Effect of supplemental oxygen on reinitiation of breathing after neonatal resuscitation in rat pups. *Pediatr Res*. 2007; 61: 698-702.
- (34) MARIANI G., DIK P. B., EZQUER A., AGUIRRE A., ESTEBAN M. L., PÉREZ C., FERNÁNDEZ JONUSAS S., FUSTIÑANA C. (2007): Pre-ductal and post-ductal O2 saturation in healthy term neonates after birth. *J. Pediatr.*; 150: 418-21.
- (35) SOLBERG R., ANDRESEN J. H., ESCRIG R., VENTO M., SAUGSTAD O. D. (2007): Resuscitation of hypoxic newborn piglets with oxygen induces a dose-dependent increase in markers of oxidation. *Pediatr Res.*; 62: 559-63.
- (36) SAUGSTAD O. D., RAMJI S., IRANI S. F., EL-MENEZA S., HERNANDEZ E. A., VENTO M., TALVIK T., SOLBERG R., ROOTWELT T., AALEN O. O. (2003): Resuscitation of newborn infants with 21% or 100% Oxygen: follow-Up at 18 to 24 months. *Pediatrics*; 112: 296-300.
- (37) NORTHWAY W. H. JR, ROSAN R. C., PORTER D. Y. (1967): Pulmonary disease following respiratory therapy of hyaline-membrane disease: bronchopulmonary dysplasia. *N. Engl. J. Med.*; 276: 357-68.
- (38) NORTHWAY W. H. JR, MOSS R. B., CARLISLE K. B., *et al.* (1990): Late pulmonary sequelae of bronchopulmonary dysplasia. *N. Engl. J. Med.*; 323: 1793-9.
- (39) BARALDI E., FILIPPONE M. (2007): Chronic lung disease after premature birth. *N Engl J Med*; 357: 1946-55.
- (40) JOBE A. H., BANCALARI E. (2001): Bronchopulmonary dysplasia. *Am J Respir Crit Care Med*; 163: 1723-9.
- (41) KINSELLA J. P., GREENOUGH A., ABMAN S. H. (2006): Bronchopulmonary dysplasia. *Lancet*; 367:1421-31.
- (42) BANCALARI E., CLAURE N. (2006): Definitions and diagnostic criteria for bronchopulmonary dysplasia. *Semin Perinatol*; 30:164- 70.
- (43) THEBAUD B. (2007): Angiogenesis in lung development, injury, and repair: implications for chronic lung disease of prematurity. *Neonatology*; 91: 291-7.
- (44) COALSON J. J. (2000): Pathology of chronic lung disease of early infancy; in Bland R, Coalson JJ (eds): Lung Biology in Health and Disease. Chronic Lung Disease in Early Infancy. New York, *Dekker*, pp 85-124.
- (45) STENMARK K. R., ABMAN S. H. (2005): Lung vascular development: implications for the pathogenesis of bronchopulmonary dysplasia. *Annu Rev Physiol*; 67: 623-661.
- (46) PRODHAN P., KINANE T. B. (2002): Developmental paradigms in terminal lung development. *Bioessays*; 24: 1052-1059.



- (47) JAKKULA M., LE CRAS T. D., GEBB S., HIRTH K. P., TUDER R. M., VOELKEL N. F., ABMAN S. H. (2000): Inhibition of angiogenesis decreases alveolarization in the developing rat lung. *Am J Physiol*; 279:L600-L607.
- (48) KASAHARA Y., TUDER R. M., TARASEVICIENE-STEWART L., LE CRAS T. D., ABMAN S., HIRTH P. K., WALTEBERGER J., VOELKEL N. F. (2000): Inhibition of VEGF receptors causes lung cell apoptosis and emphysema. *J. Clin Invest*; 106: 1311-19.
- (49) NEUFELD G., COHEN T., GENGRINOVITCH S., POLTORAK Z. (1999): Vascular endothelial growth factor and its receptors. *FASEB J*; 13: 9-22.
- (50) FERRARA N., CARVER-MOORE K., CHEN H., DOWD M., LU L., O'SHEA K. S., POWELL-BRAXTON L., HILLAN K. J., MOORE M. W. (1996): Heterozygous embryonic lethality induced by targeted inactivation of the VEGF gene. *Nature*; 380: 439-442.
- (51) FONG G. H., ROSSANT J., GERTSENSTEIN M., BREITMAN M. L. (1995): Role of the Flt-1 receptor tyrosine kinase in regulating the assembly of vascular endothelium. *Nature*; 376: 66-70.
- (52) MANISCALCO W. M., WATKINS R. H., D'ANGIO C. T., RYAN R. M. (1997): Hyperoxic injury decreases alveolar epithelial cell expression of vascular endothelial growth factor in neonatal rabbit lung. *Am J. Respir Cell Mol Biol.*; 16: 557-567.
- (53) MANISCALCO W. M., WATKINS R. H., PRYHUBER G. S., BHATT A., SHEA C., HUYCK H. (2002): Angiogenic factors and alveolar vasculature: development and alterations by injury in very premature baboons. *Am J. Physiol*; 282: L811-L823.
- (54) BHATT A. J., PRYHUBER G. S., HUYCK H., WATKINS R. H., METLAY L. A., MANISCALCO W. M. (2001): Disrupted pulmonary vasculature and decreased vascular endothelial growth factor, Flt-1, and TIE-2 in human infants dying with bronchopulmonary dysplasia. *Am J. Respir Crit. Care Med*; 164: 1971-1980.
- (55) LASSUS P., TURANLAHTI M., HEIKKILÄ P., ANDERSSON L. C., NUPPONEN I., SARNSTO A., ANDERSSON S. (2001): Pulmonary vascular endothelial growth factor and Flt-1 in fetuses, in acute and chronic lung disease, and in persistent pulmonary hypertension of the newborn. *Am J Respir Crit Care Med*; 164: 1981-1987.
- (56) SHAFFER S. G., O'NEILL D., BRADT S. K., THIBEAULT D.W. (1987): Chronic vascular pulmonary dysplasia associated with neonatal hyperoxia exposure in the rat. *Pediatr Res*; 21: 14-20.
- (57) HAN R. N., BUCH S., TSEU I., YOUNG J., CHRISTIE N. A., FRNDOVA H., LYE S. J., POST M., TANSWELL A. K. (1996): Changes in structure, mechanics, and insulin-like growth factor-related gene expression in the lungs of newborn rats exposed to air or 60% oxygen. *Pediatr Res.*; 39: 921-929.
- (58) MANISCALCO W. M., WATKINS R. H., D'ANGIO C. T., RYAN R. M. (1997): Hyperoxic injury decreases alveolar epithelial cell expression of vascular endothelial growth factor in neonatal rabbit lung. *Am J. Respir. Cell Mol Biol*; 16: 557-567.

- (59) FRANK, L. (1991): Developmental aspects of experimental pulmonary oxygentoxicity. *Free Radical Biol. Med.*; 11: 463-494.
- (60) YAM, J., FRANK, L., ROBERTS, R.J., (1987): Oxygen toxicity: comparison of lung biochemical responses in neonatal and adult rats. *Pediatr Res*; 12:115-119.
- (61) ASIKAINEN T. M., WHITE C. W. (2005): Antioxidant defenses in the preterm lung: role of hypoxia-inducible factors in BPD? *Toxicol Appl Pharmacol*; 203: 177-88.
- (62) VENTO M., ESCRIG R., SÁENZ P., SASTRE J., IZQUIERDO I., ASENSI M., VIÑA J. (2006): Prenatal corticosteroids enhance the antioxidant defense system in extremely premature infants. *EPAS*; 592861.222.
- (63) ESCRIG R., IZQUIERDO I., SAÉNZ P., SASTRE J., VIÑA J., VENTO M. (2006): Glutathione redox status at birth predicts oxygen needs in the extremely preterm infant. *Europediatrics* (Annual Meeting; Barcelona; 2006).
- (64) ALLEN J., ZWERDLING R., EHRENKRANZ R., *et al.* (2003): Statement on the care of the child with chronic lung disease of infancy and childhood. *Am J. Respir. Crit. Care Med.*; 168: 356-96.
- (65) WISEMAN H., HALLIWELL B. (1996): Damage to DNA by reactive oxygen and nitrogen species: role in inflammatory disease and progression to cancer. *Biochem. J*; 313 (Pt 1):17-29.
- (66) SILVERBERG E. (1986): Cancer statistics 1986. *CA Cancer J. Clin.*, 36: 9-25.
- (67) GREENBERG, R. S., AND SHUSTER, J. L., JR. Epidemiology of cancer in children. *Epidemiol. Rev.*, 7: 22-48, 1985.
- (68) LINET, M. S. (1985): The Leukemias: Epidemiologic Aspects. New York: Oxford University Press.
- (69) HEATH, C. W., JR. THE LEUKEMIAS. IN: D. SCHOTTENFELD AND J. F. FRAUMENI, JR. (eds.). *Cancer Epidemiology and Prevention*, pp. 728-738. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1982.
- (70) LI, F. P. CANCERS IN CHILDREN. (1982): In: D. Schottenfeld and J. F. Fraumeni, Jr. (eds.). *Cancer Epidemiology and Prevention*, pp. 1012-1024. Philadelphia: W. B. Saunders Company.
- (71) NEGLIA, J. P., AND ROBISON, L. L. (1988): Epidemiology of the childhood acute leukemias. *Pediatr. Clin. North Am.*, 35: 675-692.
- (72) ZACK M., ADAMI H. O., ERICSON A. (1991): Maternal and perinatal risk factors for childhood leukaemia. *Cancer Res*; 51: 3696-3701.
- (73) NAUMBURG E., BELLOCCO R., CNATTINGIUS S., JONZON A., EKBOM A. (2002): Supplementary oxygen and risk of childhood lymphatic leukaemia. *Acta Paediatr*; 91: 1328-33.

- (74) OUE T., KUBOTA A., OKUYAMA H., KAWAHARA H., NARA K., KAWA K., *et al.* Hepatoblastoma in children of extremely low birth weight: a report from a single perinatal center. *J. Pediatr. Surg.* 2003; 38:134-7.
- (75) MARUYAMA K., IKEDA H., KOIZUMI T., TSUCHIDA Y., TANIMURA M., NISHIDA H., *et al.* (2000): Case-control study of perinatal factors and hepatoblastoma in children with an extremely low birthweight. *Pediatr Int*; 42: 492-8.
- (76) WEINBERGER B., LASKIN D. L., HECK D. E., LASKIN J. D. (2002). Oxygen toxicity in premature infants. *Toxicol Appl Pharmacol*; 181: 60-7.
- (77) REYNOLDS P. K., URAYAMA Y., VON BEHREN J., FEUSNER J. (2004): Birth characteristics and hepatoblastoma risk in young children. *Cancer*; 100:1070-6.
- (78) SAVITZ D. A., ANANTH C. V. (1994): Birth characteristics of childhood cancer cases, controls, and their siblings. *Pediatr Hematol Oncol*; 11: 587-99.
- (79) JOHNSON C. C., SPITZ M.R. (1985): Neuroblastoma: case-control analysis of birth characteristics. *J. Natl. Cancer Inst*; 74: 789-92.
- (80) HARDY J. B. (2003): The Collaborative Perinatal Project: lessons and legacy. *Ann. Epidemiol*; 13: 303-11.
- (81) SPECTOR L. G., KLEBANOFF M. A., FEUSNER J. H., GEORGIEFF M. K., ROSS J. A. (2005): Childhood cancer following neonatal oxygen supplementation. *J. Pediatr*; 147: 27-31.



**Socios de la Fundación José Casares Gil de Amigos de la Real Academia  
Nacional de Farmacia a quien expresamos nuestra sincera  
gratitud por su mecenazgo:**

**CAJA MADRID**

---

**Farmaindustria**

---

Laboratorios Janssen-Cilag  
Alcaliber S.A.  
Almirall, S.A.  
Bristol-Myers Squibb, S.L.  
Grupo Ferrer Internacional  
Laboratorios Esteve  
Laboratorios MSD  
Laboratorios Rovi  
Novartis Farmacéutica  
Roche Farma. S.A.  
Tedec-Meiji Farma S.A.  
Laboratorios Menarini

---

**Aragofar**

---

**Consejo General de Colegios Oficiales de Farmacéuticos  
Colegio Oficial de Farmacéuticos de Madrid**

---

Colegios Oficiales de Farmacéuticos de: A Coruña, Alicante, Badajoz,  
Barcelona, Bizkaia, Burgos, Cáceres, Cádiz, Ciudad Real, Girona, Palencia,  
Principado de Asturias, Santa Cruz de Tenerife, Tarragona, Toledo y Zaragoza.